



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA

TÍTULO

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Aloysia triphylla*
“Cedrón” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 COMPARADO CON
OXACILINA.**

TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE MEDICO CIRUJANO

AUTOR

ELIZABETH RAQUEL ANAYA HUÁNUCO

ASESORES

DRA. LLAQUE SANCHEZ MARIA ROCIO DEL PILAR

MG. BLGO. JAIME ABELARDO POLO GAMBOA

MG. FREDY WALTER CABRERA DIAZ

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

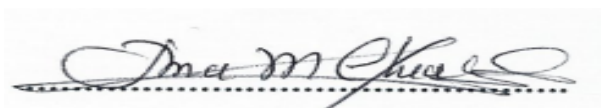
ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRASMISIBLES

Trujillo, Perú

2018

PÁGINA DEL JURADO

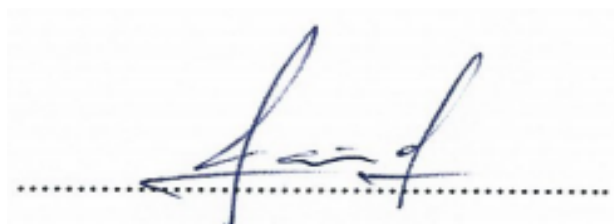
EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Aloysia triphylla* “Cedrón” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 COMPARADO CON OXACILINA.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Ana Chian Garcia', written over a horizontal dotted line.

**DRA. ANA CHIAN GARCIA
PRESIDENTE DEL JURADO**

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'María Rocío del Pilar Llaque Sánchez', written over a horizontal dotted line.

**DRA. MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ
SECRETARIA DEL JURADO**

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Jaime Abelardo Polo Gamboa', written over a horizontal dotted line.

**MG BLGO JAIME ABELARDO POLO GAMBOA
VOCAL DEL JURADO**

Trujillo, de diciembre del 2018

DEDICATORIA

*Se lo dedico a mis padres
quienes supieron guiarme por
el buen camino; por darme las
fuerzas para seguir adelante
y no desmayar ante las
adversidades, enseñándome a
encararlas sin perder la
dignidad ni desfallecer en el
intento.*

ELIZABETH RAQUEL ANAYA HUANUCO.

AGRADECIMIENTO

A DIOS

Por su infinito amor, por darme la vida y permitirme cumplir mis metas y sueños.

A MIS DOCENTES:

Dra. María Rocío Del Pilar Llaque Sánchez y
Mg. Jaime Abelardo Polo Gamboa, por sus enseñanzas, su paciencia, entrega y dedicación.

A MI FAMILIA quienes me apoyaron incondicionalmente en este largo camino.

A LA UNIVERSIDAD PRIVADA CÉSAR VALLEJO por brindarme buenos maestros que me impartieron las enseñanzas necesarias para ser una profesional competente.

ELIZABETH RAQUEL ANAYA HUÁNUCO

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, ELIZABETH RAQUEL ANAYA HUANUCO con DNI 41554700, estudiante de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Facultad de Ciencias Médicas, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, declaro bajo juramento que todos los datos e información que acompañan a la Tesis titulada **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Aloysia triphylla* “Cedrón” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 COMPARADO CON OXACILINA**, son:

1. De mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas; por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido autoplagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, de diciembre del 2018

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Aloysia triphylla* “Cedrón” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 COMPARADO CON OXACILINA**, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para el título Profesional de Médico Cirujano.

ELIZABETH RAQUEL ANAYA HUANUCO

INDICE

PÁGINAS PRELIMINARES

PÁGINA DEL JURADO	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD	iv
PRESENTACIÓN	v
ÍNDICE	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA	1
1.2. TRABAJOS PREVIOS.....	2
1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA	4
1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	11
1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	11
1.6. HIPÓTESIS	12
1.7. OBJETIVOS	12
II. METODO.....	14
2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	14
2.2. VARIABLES, OPERACIONALIZACIÓN	15
2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA.....	16
2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD.....	17
2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS	18
2.6. ASPECTOS ÉTICOS.....	18
III. RESULTADOS.....	19
IV. DISCUSIÓN	22
V. CONCLUSIONES	24
VI. RECOMENDACIONES.....	25
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
VIII. ANEXOS.....	32

RESUMEN

Se realizó un estudio experimental in vitro con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* “Cedrón” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Oxacilina, a 1 μ . Para ello se realizaron 4 diluciones del aceite esencial (100, 75, 50 y 25%), con control positivo y negativo; se hicieron 14 repeticiones por cada grupo de estudio (86 observaciones). Se obtuvo que el aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla*, mostró halos de inhibición en todas las diluciones sin embargo a partir de la dilución al 75% (30.07 mm DS: 2.947 ± 7.88), IC 95% (28.37 a 31.77) fueron considerados como eficaces en relación al patrón del CLSI ≥ 22 mm) y al 100% el halo de inhibición fue de 35.14 (DS: 3.461 ± 9.25), IC 95% (33.14 a 37.14), siendo estos más eficaces que la Oxacilina cuya media de los halos de inhibición fue de 27 mm (DS: 1.797 ± 4.80), IC 95% (25.96 a 28.04). El ANOVA fue altamente significativo (0.000); al igual que la prueba Tukey que demostró que los grupos evaluados eran homogéneos y las concentraciones de 75 y 100% eran más eficaces. Se concluye que el aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* “Cedrón” tuvo efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Oxacilina, a 1 μ .

Palabras claves: aceite esencial, efecto antimicrobiano, *Staphylococcus aureus*, *Aloysia triphylla*.

ABSTRACT

An *in vitro* experimental study was conducted to evaluate the antibacterial effect of the essential oil of *Aloysia triphylla* "Lemon beebrush / Lemon verbena" leaves on strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 compared to oxacillin 1 μ . For that purpose, four dilutions of the essential oil were made (100, 75, 50 and 25%), using a positive and negative control. 14 repetitions were made for each group studied (86 observations). The essential oil of *Aloysia triphylla* leaves showed zones of inhibition in all its dilutions; however, starting from a dilution of 75% (30.07 mm DS: 2.947 ± 7.88), IC 95% (28.37 a 31.77) it was considered effective according to the CLSI pattern (≥ 22 mm) and at 100% the zone of inhibition was 35.14 (DS: 3.461 ± 9.25), IC 95% (33.14 a 37.14), both being more effective than oxacillin, whose average zone of inhibition was 27 mm (DS: 1.797 ± 4.80), IC 95% (25.96 a 28.04). The ANOVA was highly significant (0,000) and the Tukey-test showed that the tested groups were homogeneous and that concentrations at 75% and 100% were more effective. It is concluded that the essential oil of *Aloysia triphylla* "Lemon beebrush" leaves had an antibacterial effect on strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 compared to oxacillin 1 μ .

Keywords: essential oil, antimicrobial effect, *Staphylococcus aureus*, *Aloysia triphylla*.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA

Las enfermedades infecciosas según la OMS son la tercera causa de muerte en países subdesarrollados, alcanzando una prevalencia de 36% por cada 100.000 sujetos en Latinoamérica, que responden al incremento de bacterias multiresistentes como *S. aureus*, el cual se ha convertido en un fenómeno biológico natural que ha ido aumentando con los años, permitiendo que cada vez que se pone un nuevo antimicrobiano la bacteria genere nuevos mecanismos de resistencia.¹

El *Staphylococcus aureus* está involucrado en múltiples infecciones e intoxicaciones, llegando a comprometer cualquier órgano generando problemas leves a nivel tegumentario como foliculitis, impétigo hasta cuadros mortales como neumonía necrotizante, osteomielitis, bacteriemia y sepsis. El advenimiento de cepas de *S. aureus* con resistencia a meticilina (SAMR) y vancomicina (VRSA), es una preocupación en el ambiente nosocomial debido al incremento de la mortalidad, mayor tiempo de hospitalización y costos elevados, en comparación con *Staphylococcus aureus* sin resistencia.²

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) reportó que de los 14 países latinoamericanos que presentan resistencia a meticilina (SAMR), Perú tiene el mayor porcentaje 72% seguido de Guatemala 66%, Bolivia 61%, Cuba 53%, que está relacionada al tratamiento inadecuado de las infecciones nosocomiales; generando preocupación en América latina.³

En nuestro país este resultado se debe al uso indiscriminado de medicamentos además un 58% de pacientes se auto medican con antibióticos; debido a este sombrío panorama es que se ha empezado a utilizar medicina alternativa con el fin de disminuir la resistencia antimicrobiana.⁴

El Perú cuenta con 25, 000 especies vegetales de las cuales 1400 poseen propiedades medicinales. Ante la creciente utilización de la medicina natural en los últimos años, se ha incrementado el análisis de diversos vegetales con efecto antibacteriano en la que se incluye a la *Aloysia triphylla* (cedrón) que posee compuestos activos como el citral y el limoneno los cuales han demostrado moderada a buena actividad antibacteriana.⁵

1.2. TRABAJOS PREVIOS

Azuero A, et al. (Ecuador, 2016) analizaron el efecto antimicrobiano de 12 plantas medicinales en Ecuador, e incluyeron a *Lippia citrodora* (cedrón); sobre hongos y bacterias, mediante la técnica de difusión en discos de agar. Determinaron el efecto antimicrobiano mediante los diámetros de halos de inhibición que para *S. aureus* fue < 6 mm. Concluyeron que el aceite esencial de *Lippia citriodora* (cedrón) posee una alta actividad antimicótica en comparación con los patógenos Gram positivos.⁶

Sharma A, et al. (México, 2016) investigaron el efecto antibacteriano de 343 vegetales frente a 72 bacterias, dentro de ellas el *Staphylococcus aureus*, por medio de la técnica de discos en difusión de agar, los cuales mostraron que el extracto metanólico de la planta de la familia Verbenaceae (*Aloysia citriodora*) mostró un halo de inhibición de 12 mm para *S. aureus*. Concluyeron que el extracto metanólico de la planta tiene efecto antibacteriana prometedor.⁷

Pérez C, et al. (Argentina, 2015) evaluaron al actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Aloysia triphylla* mediante la técnica en disco de agar con medio de cultivo de Mueller Hinton sobre cepas Gram positivas y Gram negativas utilizando concentraciones de 1,82 a 29,13 µl/ml del aceite esencial. Determinaron un halo de inhibición para *Staphylococcus*

aureus de 11 mm. Concluyeron que la *Aloysia triphylla* es una fuente promisorio de compuestos químicos con actividad antibacteriana.⁸

Abuhamdah S, et al. (Jordán, 2013) determinaron el efecto antibacteriano de extractos metanólicos de seis plantas medicinales contra 3 cepas de bacterias en la que se incluyó al *Staphylococcus aureus*. El valor de MIC para el extracto de *A. citriodora* contra *S. aureus* fue de 12,5 mg con un halo de inhibición de 11 mm. Concluyeron que *A. triphylla*, tienen actividad antibacteriana significativa y podría ser muy útil en el descubrimiento de antibacterianos novedosos.⁹

Koohsari H, et al. (Irán, 2013) analizaron el efecto antibacteriano de los extractos etanólicos y acuosos de partes aéreas de *A. triphylla* contra nueve cepas de bacterias, en el cual utilizaron cuatro concentraciones (1000, 500, 250, 125 mg/ml). La técnica utilizada fue por difusión de discos, en la que encontraron que el halo de inhibición para *S. aureus* fue de 20 mm.¹⁰

Ali H, et al. (Egipto, 2011) estudiaron la actividad antioxidante y antimicrobiana de *Aloysia triphylla* frente a patógenos gram- positivos, gram-negativos y hongos mediante la técnica de difusión de agar en discos, usando 4 concentraciones (5, 10, 15, 25 ul/ml). Identificaron que el aceite esencial de *A. triphylla* expuso una actividad antibacteriana moderada para *Staphylococcus aureus* ++ con un halo de inhibición entre (5-10 mm). Concluyeron que el aceite esencial de *A. triphylla* tiene buena actividad antibacteriana para Gram positivos.¹¹

Rojas L, et al. (Venezuela, 2010) estudiaron la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Aloysia triphylla*, mediante la técnica de difusión en agar con discos sobre cepas gram positivas y gram negativas. Encontrando para *S. aureus*, un halo de inhibición de 18.75 ± 0.25 mm. Concluyeron que el aceite esencial de *Aloysia triphylla* posee alta actividad antimicrobiana.¹²

Oliva M. et al (Argentina, 2010) evaluaron la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Aloysia triphylla* obtenido por arrastre con vapor de agua a una concentración desde 10 µg/ml hasta 200 µg/ml, sobre 5 cepas bacterianas dentro de ellas el de *S. aureus* ATCC 25923. La técnica utilizada fue por difusión en discos obteniendo un halo de inhibición de 20mm para *S. aureus*. Concluyeron que el aceite esencial de *A. triphylla* tiene buena actividad antimicrobiana para gram positivos y una actividad moderada para gram negativos.¹³

Aliaga P. (Perú, 2013) el presente estudio se llevó a cabo para encontrar la actividad inhibitoria bacteriana del aceite esencial de *Aloysia triphylla* “cedrón” a diferentes concentraciones, frente a *S. aureus* usando la técnica de difusión en disco, y cultivo en agar, obteniendo un halo de inhibición de 11,07 mm con 12.5 ml de aceite esencial. Concluyeron que el aceite esencial de *A. triphylla* tiene moderada actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*.¹⁴

Ávila E. (La Libertad, 2013) estudiaron la caracterización del *S. aureus* resistente a la meticilina en trabajadores de la unidad de cuidados intensivos del hospital Regional Docente de Trujillo (HRDT), para dicho estudio se tomó muestras nasales a 30 personas, las que posteriormente fueron sembradas en medios de cultivo adecuado para este patógeno así mismo se les realizó pruebas de susceptibilidad mediante la técnica de Kirby-Bauer a fin de identificar SARM. El estudio concluyó que la incidencia por este patógeno fue de 3% y por *S. aureus* de 47%. El estudio concluyó que el personal de UCI del HRDT son portadores de SARM.¹⁵

1.3. TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA

El *Staphylococcus aureus* forma parte de la microbiota humana; y produce enfermedad si el microorganismo prolifera, se irradia por los tejidos, o por

su propiedad de generar toxinas y enzimas extracelulares. Siendo la extensión de los microorganismos un problema típico en los nosocomios.¹⁶

Las infecciones de la piel por *Staphylococcus aureus* están relacionadas al sitio donde se encuentra de forma no patológica como son fosas nasales y flexuras, donde las bacterias se pueden encontrar de forma intermitente, o cada vez que se buscan. A pesar de ser inofensivos en la mayoría de los individuos, el *S. aureus* es conocido por causar forúnculos, orzuelos, impétigo y otras infecciones superficiales de la piel en los seres humanos. La mayoría de pacientes que desarrollan la enfermedad tiene un cuadro de inmunosupresión, como es el caso de pacientes consumidores de corticoides, diabéticos, infectados con VIH entre otros.¹⁷

Las infecciones más graves, sobre todo en personas debilitadas por una enfermedad crónica son las lesiones traumáticas, quemaduras o inmunosupresión, neumonías necrotizantes, endocarditis, y la osteomielitis. El *Staphylococcus aureus* llega a estos órganos a través del torrente sanguíneo, pero para cada uno de ellos se requieren ciertos factores de riesgo biológicos y demográficos. La neumonía necrotizante producida por SARM provoca una mortalidad elevada; afecta especialmente a niños y jóvenes sin factores de riesgo; está implicado el gen que codifica LPV (leucocidina de panton valentine) que está muy está vinculada a la gravedad de esta patología.¹⁸

La endocarditis causada por *Staphylococcus aureus* está altamente relacionada en consumidores de drogas por vía endovenosa, o con aquellos que poseen prótesis valvulares, estos últimos tienen mayor importancia ya que en el mundo se está incrementado la prevalencia de estenosis aortica severa sintomática. El cuadro clínico se caracteriza por un alza de temperatura gradual que es más notoria en horarios vespertinos, así también suele asociarse con insuficiencia respiratoria e infecciones cutáneas.¹⁹

La osteomielitis se desarrolla por una proliferación del microorganismo a través del torrente sanguíneo o por contigüidad, tiene mayor prevalencia en pacientes pediátricos y en aquellos que son sometidos a cirugías de trauma osteoarticular. El cuadro clínico está caracterizado por dolor óseo, fiebre, sudoración profusa y signos flogóticos en el sitio de infección manifiestos estracorporeamente.²⁰

El *S. aureus* expresa muchas proteínas asociadas a la superficie celular y extracelular que son posibles factores de virulencia; la patogénesis es multifactorial. Para iniciar la infección el patógeno debe tener acceso al hospedador y medios de adherencia a las células del huésped o tejidos.²¹ Expresan en su superficie proteínas que promueven la unión a las células del huésped tales como laminina y fibronectina que forman parte de la matriz extracelular. Además, la mayoría de las cepas expresan una proteína de unión a fibrina (el factor de aglutinación), que promueve la unión a coágulos de sangre y tejidos lesionados. El receptor que promueve la unión al colágeno está particularmente asociado con cepas que causan la osteomielitis y artritis séptica.²²

Uno de los medios por los cuales se genera la unión del patógeno con las células de huésped es la proteína A, que se une a la inmunoglobulina G; así mismo la leucocidina, la hemolisina y la coagulasa que son proteínas extracelulares intervienen en la génesis de la patología. La leucocidina es una toxina que actúa sobre los leucocitos polimorfonucleares, la hemolisina lisa los eritrocitos y también es tóxica para los leucocitos. La fagocitosis es una defensa importante contra la infección por estafilococo por la leucocidina.²³

Los estafilococos son bacterias Gram positivas esféricas de 1µm de diámetro, distribuidos en forma de racimos irregulares. Fermentan hidratos de carbono y producen ciertos pigmentos que van desde una coloración blanquecina hasta amarillenta. Los estafilococos patógenos

producen hemólisis, coagulación plasmática, enzimas y toxinas (catalasa) capaces de transformar el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno. Son resistentes a la desecación del calor y al cloruro de sodio, pero se inhibe con habilidad mediante hexaclorofeno a 3%, están desprovistos de motilidad y no forman esporas, crecen con facilidad en todos los medios bacteriológicos. El agar Manitol salado es un medio idóneo para aislar el *Staphylococcus aureus*, ya que toleran alta concentración de cloruro sódico. Crecen en condiciones aerobias o micro-aerofílicas; y su crecimiento se da con mayor rapidez a 37 °C produciendo colonias de color gris-amarillo o dorado.²⁴

Existen por lo menos 40 especies de *Staphylococcus*, pero los de mayor relevancia clínica y epidemiológica son: *S. aureus*, *S. epidermidis* y *S. saprophyticus*. El *Staphylococcus aureus* se distingue de otras especies por su propiedad de ser coagulasa-positivo, contiene distintos glúcidos como los polisacáridos y proteínas con propiedad antigénica así como otras sustancias de importancia estructural dentro de su pared celular. La proteína A es una proteína de la superficie bacteriana que tiene la característica de ser una adhesina.²⁵

Tiene la capacidad de generar mayor daño a los tejidos a través de sus propiedades de multiplicarse y diseminarse ampliamente en los distintos tejidos y por la producción de distintas sustancias extracelulares; generan coagulasa, una enzima que tiene la capacidad de coagular el plasma; esta proteína se une a la protrombina; y en conjunto pueden transformarse enzimáticamente e iniciar la polimerización de fibrina. Otras proteínas producidas por *S. aureus* incluyen a hialuronidasa y estafilocinasa que genera fibrinólisis con acción más lenta que la estreptocinasa, y las proteinasas, lipasas y β -lactamasas.²⁶

En el Perú y otros países sub-desarrollados, las plantas medicinales representan todavía una de las primordiales herramientas terapéuticas en medicina alternativa. La flora peruana brinda muchas opciones para el develamiento de nuevos elementos vegetales con efecto antimicrobiano.

El Perú tiene alrededor de 25,000 tipos de plantas, de estas 5354 son especies nativas; siendo el cedrón la tercera planta aromática más exportada.²⁷

Aloysia triphylla es un vegetal de Suramérica, oriunda de Perú caracterizada por tener un aroma a limón, así como efecto antibacteriano, antiespasmódico, carminativo y sedante. Los nombres botánicos más usados para describir esta planta son: *A. triphylla*, *A. citrodora*, *Lippia triphylla*, *Verbena triphylla*, *Zapania citriodora* Lam, *Aloysia sleumeri*, así mismo los nombres populares más usados son: “cedrón”, “cidrón” “hierba de la princesa”, “limón verbena”, “verbena de las indias”, según el país o la región. Se le atribuye el nombre de triphylla porque sus hojas están insertadas en cada nudo formando un vértice de tres. En marzo se da la mayor producción de hojas frescas y en octubre la planta tiene la mayor concentración de aceite esencial antes de la floración; para la recolección de las hojas es recomendable regarla y secarlas a una temperatura menor de 40 grados en la sombra.²⁸

El cedrón pertenece al reino Plantae, subreino Tracheobionta, de la división Magnoliophyta, clase Magnoliopsida, subclase Asteridae, familia Verbenaceae, género *Aloysia* y especie triphylla. Se usa para patologías infecciosas respiratorias, gastrointestinales (indigestión, diarrea, flatulencia, dispepsia, cólicos, náuseas, vómitos, etc.), asimismo se usa como calmante (insomnio y ansiedad). Su esencia se utiliza para mermar sabores y olores en la industria culinaria, quimio-farmacéutica así como en perfumería; es aceptada por la Food and Drug Administration (FDA), como una sustancia segura para el consumo de sus formas en infusiones. El cedrón tiene un aroma agrídulce, es un arbusto que puede crecer entre 3 - 3,5m; es de tallo leñoso, sus hojas son alargadas y angostas con un largo de 5 a 10 cm, sus flores son pequeñas, blancas o violáceas, que se caen en otoño, dispuestas en espigas terminales; puede desarrollarse en climas cálidos, templados y fríos; desde los 0 – 2300msnm.²⁹

La composición química de la *Aloysia tryphilla* varía por cada parte del vegetal, en muchas investigaciones afirman la variabilidad de la constitución química y lo atribuyen a factores intrínsecos (parte del vegetal en estudio, etapa de desarrollo de la especie, etc.) así como extrínsecos (el clima, tratado en la postcosecha, etc.) junto con los métodos y condiciones de extracción de la planta. Sus principales componentes activos son (citral, limoneno, cinalol, ciriol, terpenol,) que están en mayor proporción en las hojas.³⁰

El citral es el elemento en mayor proporción de *Aloysia triphylla* (38-40%), compuesto por dos aldehídos monoterpénicos, el neral y el geranial. Se identifica por su enérgico aroma a limón; este componente es esencial para la génesis de iononas, componente transcendental para la industria de alimentos y perfumes. A demás aparte de su aroma particular, posee efectos antibacterianos, antihistamínicos, fungicida, expectorante y anticancerígeno. Así mismo se ha demostrado que el citral es uno de los componentes con mayor actividad antimicrobiana, siendo el pH básico preferente para ejercer sus efectos antibacterianos.³¹

El limoneno es otro componente de *Aloysia triphylla* (7-11%), tiene una gran categoría en la industria asimismo tiene efectos antibacterianos, anticancerígenos, antiespasmódicos y expectorantes; también se han identificado otros componentes en las hojas de *Aloysia triphylla* (linalol, canfeno, α -terpineol, y trans- β -cariofileno), estos están en menor porcentaje y no se han identificado con exactitud su actividad bioquímica.³²

Los aceites esenciales (AE) son elementos volátiles combinados, que son el resultado del metabolismo de las plantas, estos aceites tienen como componentes principales que les confieren el aroma a elementos oxigenados como son los alcoholes, cetonas, aldehídos, ácidos y ésteres asimismo a hidrocarburos del grupo de terpenos. El aceite esencial se encuentra en diferentes partes de la planta, pero las estructuras

secretoras especializadas están en las tricomas glandulares (hojas) o en las glándulas (cáscaras).³³

Los (AE) poseen aromas agradables, generalmente obtenidos por arrastre con vapor de agua, y son trascendentales en la elaboración de productos farmacéuticos como saborizantes. En la industria cosmética y alimentaria como perfumes y condimentos.³⁴

Los betalactámicos antiestafilocócicos, se desarrollaron en la década de 1950 para tratar el creciente problema de las infecciones estafilocócicas debidas a los organismos resistentes a la penicilina. Estas cepas de *S. aureus* producen β -lactamasas con actividad principalmente penicilinasas. La adición de una cadena lateral voluminosa grande (grupos metoxi o isoxazolil) protegen el enlace β -lactamasa y no interfiere con la penetración a las PBP objetivo ya que éstas bacterias gram positivas no tienen paredes celulares externas; la cloxacilina y dicloxacilina son las formas orales de estos fármacos.³⁵

El nivel de penetración de estos antibióticos depende mucho del tipo de pared celular que tiene el microorganismo y las características estructurales que tiene dicha pared. Existen diferencias inherentes en la naturaleza de las paredes celulares de gram positivo en oposición a las bacterias gram negativas que determinan la susceptibilidad.³⁶

La Oxacilina pertenece a la familia de las isoxazolil penicilina, tiene resistencia a la acción de la penicilinasas. Es uno de los fármacos selectos para la terapéutica de la mayoría de las patologías estafilocócicas. Inhibe la producción de proteínas estructurales en la pared bacteriana (peptidoglicano); para llegar a su sitio de acción que son las PBPS (proteínas ligadoras de penicilina); depende de la habilidad de la penicilina, ubicadas en la membrana interna de la pared bacteriana. La PBPS tienen enzimas esenciales que son (transpeptidasas, carboxilasas y endopeptidasas) que participan en los estadios finales del acoplamiento y remodelamiento de la pared bacteriana durante su división y crecimiento;

la Oxacilina se une e inactiva las PBPS, provocando lisis de la pared bacteriana.³⁷

La Oxacilina viene en presentación oral e inyectable; el pico plasmático se obtiene a los 30 minutos de su administración, el 93% de ella está unida a proteínas plasmáticas en su mayoría albúmina, tiene una amplia distribución a tejidos como líquido peritoneal, pleural, del oído medio, mucosa intestinal, el tejido óseo y biliar, entre otros. La vida media es de 30 minutos a 1 hora en sujetos sin comorbilidades. El 40 % de Oxacilina es excretada por la orina y un 60% se excreta por vía biliar, el medio de excreción es importante para los pacientes con patología renal asociada, ya que no requiere ajuste de dosis en dichos pacientes.³⁸

Las reacciones adversas que producen en su mayoría son las gastrointestinales (60%); como diarrea, vómitos y el dolor epigástrico; las menos frecuentes son hipersensibilidad al fármaco, manifestada por anafilaxia, urticaria, hepatotoxicidad y nefritis intersticial.³⁹

1.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿El aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* (Cedrón) tuvo efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Oxacilina, a 1 microgramo, en un estudio in vitro?

1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Las enfermedades infecciosas ocasionadas por *Stafilococcus aureus* constituyen un álgido problema de salud en los diversos nosocomios de nuestro país y a nivel mundial; provocando muchas muertes sobre todo en países subdesarrollados como el nuestro. Esto es debido a que la bacteria desarrolla fácilmente mecanismos de defensa para resistir a la terapia antibiótica lo cual ha incrementado las infecciones por *S. aureus* resistente a la meticilina.

La resistencia antibacteriana debido al uso desmedido de antibióticos sin prescripción médica ha incrementado el desarrollo de patógenos resistentes a medicamentos de primera línea como la Oxacilina; promoviendo así el uso de medicamentos de segunda y tercera línea que son caros y más tóxicos; esta resistencia a antibióticos amplía la estancia hospitalaria y la probabilidad de muerte.

Este panorama exige la búsqueda de otras opciones de tratamiento como la medicina natural o alternativa que está al alcance de la población y que produce menos efectos adversos; por lo que la presente investigación estuvo orientada a incluir el aceite esencial del cedrón como un agente antibacteriano contra *S. aureus* y al ser efectiva permitió plantear alternativas para la obtención de un preparado para tratar diversas patologías infecciosas atribuibles al este patógeno y como base para futuras investigaciones relacionadas al tema.

1.6. HIPÓTESIS

H1: El aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* “Cedrón” tuvo efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Oxacilina, a 1 microgramo, en un estudio in vitro.

H0: El aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* “Cedrón” no tuvo efecto sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Oxacilina, a 1 microgramo, en estudio in vitro.

1.7. OBJETIVOS

1.7.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* “Cedrón” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Oxacilina, a 1 microgramo, en un estudio in vitro.

1.7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* “cedrón” al 100%.
- Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* “cedrón” al 75%.
- Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* “cedrón” al 50 %.
- Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* “cedrón” al 25%.
- Establecer el efecto antibacteriano de la Oxacilina a 1 microgramo.

II. MÉTODO

2.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:

TIPO DE INVESTIGACIÓN: Básico

DISEÑO DE INVESTIGACION: experimental con repeticiones múltiples

Experimental de series de tiempo con repeticiones múltiples

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	X4	O4
RG5	X5	O5
RG6	X6	O6

Donde:

RG: Grupos de estudio

X1: Aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* al 100%

X2: Aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* al 75%

X3: Aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* al 50%

X4: Aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* al 25%

X5: Control positivo: Oxacilina a 1 microgramo.

X6: Control negativo: DMSO

O: Las observaciones del diámetro del halo de inhibición

2.2. VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN

Variable Independiente: Agente antibacteriano

- **Agente antibacteriano no farmacológico:** Aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* “Cedrón”
- **Agente antibacteriano farmacológico:** Oxacilina a 1µg

VARIABLE DEPENDIENTE: Efecto antibacteriano

- **Si efecto antibacteriano:** aumento del halo de inhibición, ≥ 22 mm.

- **No efecto antibacteriano:** disminución del halo de inhibición, ≤ 22 mm.

Operacionalización de variables:

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
V. I: Agente antibacteriano para cepas de <i>S. aureus</i> ATCC 25923	Agente antibacteriano no farmacológico: <i>Aloysia triphylla</i> (cedrón). ³¹ Agente antibacteriano farmacológico: Oxacilina. ⁴⁰	La <i>Aloysia triphylla</i> será dividida en las siguientes diluciones: a) 100% b) 75% c) 50% d) 25% e) Oxacilina f) Agua destilada	RG1 RG2 RG3 RG4 RG5 RG6	Cualitativa nominal
V. D: Efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Aloysia triphylla</i>.	Se medirá mediante el incremento del halo de inhibición por medio del método Kirby Bauer. ⁴¹	Según Kirby Bauer Se considera: ⁴¹ a) Sensible: ≥ 22 mm b) Resistente: ≤ 21 mm	Si efecto antibacteriano: ≥ 22 mm No efecto antibacteriano: < 22 mm	Cualitativa nominal

2.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACIÓN: Estuvo constituida por todas las cepas de *Staphylococcus aureus* cultivadas en el laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo.

MUESTRA:

Tamaño muestra:

Por tratarse de un trabajo experimental se empleó la fórmula estadística de diferencia de promedio sobre halos de inhibición, para hallar el número de placas necesarias que validen la investigación.⁴² Se obtuvo de muestra 14 repeticiones por grupo de experimentación. (Ver Anexo 1)

Unidad de análisis: Cada uno de los cultivos de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Unidad de muestra: Cada placa Petri con cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Muestreo: Se consideró el muestreo no probabilístico.

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Criterios de inclusión:

- Placas petri con cultivos viables.
- Cepas cultivadas de 18 -24 horas.

Criterios de exclusión:

- Cepas que no crecieron en el medio de cultivo.
- Cepas o muestra contaminada.

2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

LA TÉCNICA: Consistió en la observación directa de los cultivos en las placas petri.^{41, 45}

PROCEDIMIENTO: Para el presente estudio se consideraron los pasos siguientes:

- a) La planta fue identificada taxonómicamente por el Herbarium Truxillense HUT. (Anexo 2)
- b) Se obtuvo el aceite esencial de *Aloysia triphylla* “cedrón” mediante la técnica de arrastre de vapor de agua.⁴³ (Anexo 3)
- c) Se utilizó el medio de cultivo agar Muller-Hinton, para el cultivo de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en la prueba de susceptibilidad, de acuerdo con el Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión.⁴⁴ (Anexo 4)
- d) Se evaluó la susceptibilidad antibacteriana siguiendo las normas y procedimientos establecidos en los estándares M02-A12⁴⁵ y M100⁴¹ del CLSI. (Anexo 5)

INSTRUMENTO: El instrumento que se utilizó una ficha de recolección de datos estructurada para el recojo de los datos que se observaron en las placas: halos de inhibición. (Anexo 6).

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

El instrumento estuvo validado por 3 profesionales del área, que garantizaron que los datos obtenidos en el experimento fueran registrados adecuadamente acorde con los objetivos del presente experimento.

2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

La información obtenida fue tabulada en una ficha Excel, y luego se analizaron en el programa SPSS versión 25. Para los gráficos se utilizó el diagrama de cajas o bigotes. Se aplicaron las pruebas estadísticas de análisis de varianza (ANOVA), para evaluar la diferencia significativa entre los diámetros. Posteriormente se aplicó la Prueba Post ANOVA de Tukey que permitió identificar la dilución con la que se obtuvo el mayor tamaño de halo de inhibición.

2.6. ASPECTOS ÉTICOS:

En el estudio se tomó en cuenta las medidas de bioseguridad en el laboratorio dadas por el Ministerio de Salud.⁴⁶ Así mismo se consideró la aprobación del Comité de Investigación de la Facultad De Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo de Trujillo.

En el presente trabajo se respetó el principio de ética adoptado en el capítulo 6 de código de ética del Colegio Médico del Perú, especialmente el 6 art 48.⁴⁷

III. RESULTADOS

TABLA 1. Eficacia del aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Oxacilina, 1 μ en un estudio in vitro.

Diámetro del halo de inhibición								
Tratamiento con Aceite esencial de <i>Aloysia triphylla</i>					95% del intervalo de confianza para la media			
					Límite inf.	Límite sup.	Mín	Máx
N	Media	Desv. estándar	Desv. Error					
100%	14	35.14	3.461	.925	33.14	37.14	30	40
75%	14	30.07	2.947	.788	28.37	31.77	26	36
50%	14	17.64	2.649	.708	16.11	19.17	14	23
25%	14	8.50	1.698	.454	7.52	9.48	6	12
Oxacilina	14	27.00	1.797	.480	25.96	28.04	24	30
Total	70	23.67	9.884	1.181	21.31	26.03	6	40

Fuente: Reporte de resultados del SPSS Ver. 25

TABLA 2: Eficacia del aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Oxacilina, 1 μ en un estudio in vitro

Análisis de varianza (ANOVA)					
Fuente de Variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	6302.086	4	1575.521	233.088	.000
Dentro de grupos	439.357	65	6.759		
Total	6741.443	69			

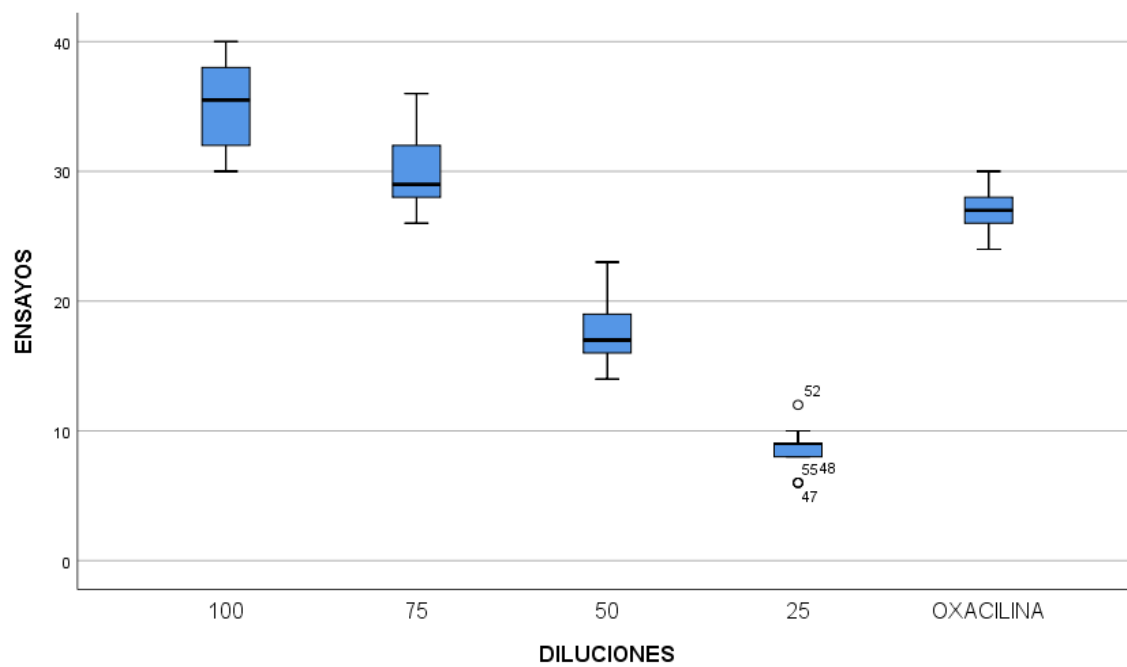
Fuente: Reporte de resultados del SPSS Ver. 25

TABLA 3. Eficacia del aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Oxacilina, 1 μ en un estudio in vitro.

Pruebas Post-hoc de Tukey

ENSAYOS						
HSD Tukey ^a						
DILUCIONES	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Aceite esencial de cedrón al 25%	14	8.50				
Aceite esencial de cedrón al 50%	14		17.64			
Oxacilina	14			27.00		
Aceite esencial de cedrón al 75%	14				30.07	
Aceite esencial de cedrón al 100%	14					35.14
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.						
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 14.000.						

Fuente: Reporte de resultados del SPSS Ver. 25



Fuente: Reporte de resultados del SPSS Ver. 25

GRAFICO 1. Eficacia del aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Oxacilina, 1 μ en un estudio in vitro.

IV. DISCUSIÓN

Con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia triphylla* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Oxacilina 1µg, se desarrolló el presente estudio experimental in vitro. Para lo cual se hizo la obtención del aceite esencial de la *Aloysia triphylla*, en diluciones del 100%, 75%, 50% y 25%, se comparó con el patrón de Oxacilina 1µg y un control negativo con suero fisiológico.

En la Tabla N° 1 se observa la media de los halos de inhibición de las diluciones del aceite esencial de la planta y del control positivo de la Oxacilina; se evidencia que el aceite esencial muestra inhibición en todas las concentraciones, siendo más eficaz a la concentración de 100%, con una media de halo de inhibición de 35.14 (DS: 3.461 ± 9.25), IC 95% (33.14 a 37.14) entre los intervalos de 30 a 40mm. Al 75%, la media del halo de inhibición es 30.07 mm (DS: 2.947 ± 7.88), IC 95% (28.37 a 31.77) con intervalo de 26 a 36 mm; siendo los halos menores al 50 y 25%.

En el análisis de varianza ANOVA Tabla N° 02 evidencia que los resultados encontrados fueron altamente significativos para el aceite esencial de *Aloysia triphylla* y en la prueba de homogeneidad de Tukey, Tabla N°03, se puede observar que los grupos en estudio fueron homogéneos; que a mayor concentración del aceite esencial mayor halo de inhibición y estos superan el efecto antibacteriano de la Oxacilina.

Se puede visualizar lo expresado en el gráfico 1 donde se comparan las medias, se objetiviza claramente que las concentraciones del aceite esencial al 75 y 100%, son más eficaces y tienen mayor halo de inhibición que la Oxacilina.

Los trabajos sobre esta planta son escasos sin embargo se ha comparado con estudios como los de Sharma A, et al. ⁷ quienes al evaluar el efecto

antimicrobiano del extracto metanólico, obtuvieron un halo de inhibición de 12mm. Pérez C, et al.⁸ al utilizar concentraciones de 1,82 a 29,13 µl/ml del aceite esencial encontraron un halo de inhibición de 12mm. Abuhamdah S, et al.⁹ al evaluar el extracto metanólico de las hojas de *Aloysia triphylla* *Staphylococcus aureus*, obtuvieron un halo de inhibición de 11mm; Koohsari H, et al.¹⁰ aplicaron los extractos etanólico y acuoso de las hojas de *Aloysia triphylla* con cuatro concentraciones (1000, 500, 250, 125 mg/ml), encontraron que el halo de inhibición para *S. aureus* fue de 20mm.

Ali H, et al.¹¹ trabajaron con el aceite esencial *A. triphylla* frente a patógenos Gram positivos, Gram negativos y hongos, usando 4 concentraciones (5, 10, 15, 25 ul/ml), obteniendo un halo de inhibición para *Staphylococcus aureus* entre 5-10 mm; Rojas L, et al.¹² usaron aceite esencial sobre *S. aureus*, el halo de inhibición fue de 18.75± 0.25 mm; Oliva M. et al.¹³ analizaron el aceite esencial con concentraciones de 10 µg/ml hasta 200 µg/ml, obteniendo para *S. aureus* un halo de inhibición de 20mm; Aliaga P.¹⁴ obtuvo un halo de inhibición de 11,07 mm con 12.5 ml de aceite esencial. Todos ellos consideraron que el producto tenía efecto antibacteriano, pero en nuestro estudio resultó ser mayor, incluso superando al control positivo.

Finalmente se considera que las diferencias encontradas en los resultados de los antecedentes y los de nuestra investigación dependen de la técnica utilizada para la extracción del producto, la forma de presentación (extracto acuoso, etanólico, aceite esencial), el terreno de cultivo (temperatura, altitud, humedad, estación de la cosecha, etc.) que influyen en relación a la concentración de los principios activos en las plantas.

V. CONCLUSIONES

- El aceite esencial de la hoja de *Aloysia triphylla* cedrón a concentraciones altas, evidenció mayor efecto antibacteriano superando el efecto incluso al de la Oxacilina a 1 μ .
- A la dilución del 100% se obtuvo un halo de inhibición de 35.14 mm mayor que la Oxacilina.
- A la dilución de 75% se obtuvo un halo de inhibición de 30.07 mm, mayor que la Oxacilina.
- A la dilución del 50% se obtuvo un halo de inhibición de 17.64 mm. considerado resistente según el CLSI.
- A la dilución del 25% se obtuvo un halo de inhibición de 8.5 mm, considerado resistente según el CLSI.
- La Oxacilina tuvo un halo de inhibición de 27 mm, menor que las concentraciones del 75 y 100 por ciento del extracto.

VI. RECOMENDACIONES

1. Continuar el estudio con otras bacterias Gram positivas y Gram negativas, hongos y parásitos.
2. Realizar estudios como tratamiento coadyuvante con otros medicamentos antibacterianos o antimicóticos para evaluar si potencia sus acciones farmacológicas antibacterianas o antimicóticas.
3. Realizar otro tipo de preparados de *Aloysia triphylla* como extracto acuoso, metanolico y determinar su efectividad, sobre agentes patógenos.
4. Realizar estudios experimentales con roedores para evaluar el efecto antibacteriano en seres vivos, efectos adversos, dosis mínima inhibitoria.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- 1) Organización Mundial de la Salud. 2013. La mortalidad y las estimaciones globales de salud. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud. [citado el 20 de Abr de 2017]. Disponible en:
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/131953/1/9789240692695_spa.pdf
- 2) Steven Y. Joshua S. Thomas L. Vance G. *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. CrossMark.2015; 28(3): 603–661. [citado el 23 de Abr de 2017]. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4451395/>
- 3) Organización Panamericana de la Salud (OPS). Informe anual de red de monitoreo/vigilancia de resistencia a antibióticos. Washington, D.C. 2009. [citado el 20 de Abr de 2017]. Disponible en:
<http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1822.pdf>
- 4) Ministerio de salud (MINSA). Manejo de la prescripción y uso de antimicrobianos en la consulta ambulatoria de hospitales. Lima. 2007. [citado el 30 de Abril de 2017]. Disponible en:
http://bvs.minsa.gob.pe/local/DIGEMID/836_DIGEMID57.pdf
- 5) Valera G. Las plantas medicinales y su beneficio en la salud. 1a ed. Perú: AIDASEP; 1994.
- 6) Azuero A. Jaramillo C. San Martin D. De Armas H. Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador. 2016. Revista Ciencia, Vol. 9. (22):11-18. Ecuador Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud y Universidad Técnica de Machala. [citado el 02 de May de 2017]. Disponible en
<http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/342/295>
- 7) Sharma. A, Flores. R, Cardoso. A. Villarreal M. Antibacterial activities of medicinal plants used in Mexican traditional medicine. El Sevier. 2016. [citado el 08 de May de 2017]. Disponible en
https://www.researchgate.net/publication/301937872_Antibacterial_Activities_of_Medicinal_Plants_Used_in_Mexican_Traditional_Medicine

- 8) Pérez C. Torres C. Aguado M. Nuñez M. Antibacterial activity of essential oils of *Aloysia polystachya* and *Lippia turbinata* (Verbenaceae). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat. 2016; (4): 199 – 205. [citado el 19 de May de 2017]. Disponible en:
<http://www.journals.usach.cl/ojs/index.php/blacpma/article/viewFile/2601/2370>
- 9) Abuhamdah. S, Abuhamdah. R, Al-Olimat. S, Chazot. P. Phytochemical Investigations and Antibacterial Activity of Selected Medicinal Plants from Jordan. European Journal of Medicinal Plants. European Journal of Medicinal Plants. 2013. Vol. (3): 394-404. [citado el 10 de May de 2017]. Disponible en:
http://www.journalrepository.org/media/journals/EJMP_13/2013/May/1367818092-Abuhamdah332013EJMP3540.pdf
- 10) Koohsari H. Allah E. Sadegh M. Sadegh A. Evaluation of antibacterial activity of Lemon verbena (*Aloysia triphylla*) leaves. Journal Annals of Biological Research, 2013, 4 (10):52-55. [citado el 10 de May de 2017]. Disponible en:
[http://www.scholarsresearchlibrary.com/articles/evaluation-of-antibacterial-activity-of-lemon-verbena-Aloysia triphylla-leaves.pdf](http://www.scholarsresearchlibrary.com/articles/evaluation-of-antibacterial-activity-of-lemon-verbena-Aloysia-triphylla-leaves.pdf)
- 11) Ali H. El-Beltagi H. Nasr N. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of *Aloysia triphylla*. Ejeafeche.2011. Vol. (10):100-150. [citado el 12 de Mayo de 2017]. Disponible en:
[https://www.researchgate.net/publication/315847605_EVALUATION_OF_ANTIOXIDANT_AND_ANTIMICROBIAL_ACTIVITY_OF_ALOYSIA TRIPHYLLA](https://www.researchgate.net/publication/315847605_EVALUATION_OF_ANTIOXIDANT_AND_ANTIMICROBIAL_ACTIVITY_OF_ALOYSIA_TRIPHYLLA)
- 12) Rojas L. Velasco J. Diaz T. Gil R. Carmona J. Usubillaga A. Composición química y efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton contra patógenos genito-urinarios. Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat. 2010. 9(1): 56 - 62. [citado el 12 de May de 2017]. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85612108007>

- 13) Oliva M. Beltramino E. Gallucci N. Casero C. Zygadlo J. Antimicrobial activity of essential oils of *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton from different regions of Argentina. Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat. 2010. 9(1):29 – 37. [citado el 26 de May de 2017]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85612108005>
- 14) Aliaga P. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de hojas de *Aloysia triphylla* P. “cedrón” frente a *Escherichia coli* ATTC 25922 y *Staphylococcus aureus* 25923. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna Correo electrónico. 2013. [citado el 10 de May de 2017]. Disponible en: http://200.37.105.196:8080/bitstream/handle/unjbg/285/170_2013_Aliaga_Mamani_PA_FACI_Microbiologia_2013_Resumen.pdf?sequence=2
- 15) Ávila E. Frecuencia y susceptibilidad antibiótica del *Staphylococcus aureus* proveniente de hisopados nasales en una población urbano marginal de Lima, Perú. Rev. Perú med exp salud pública. 2012; 29 (2):206-11 [citado el 10 de May de 2017]. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/medicina_experimental/v29_n2/pdf/a06v29n2.pdf
- 16) Benetti J. Dolin R. Blaser M. Enfermedades infecciosas principios y práctica. Vol 2. 8va ed. España: El Sevier Masson; 2015.
- 17) Balasini C. Reina R. Candela M. Infectología crítica manejo de la patología infecciosa en el paciente grave. 1º ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2014.
- 18) Hanley M. Welsh C. Diagnóstico y tratamiento de enfermedades pulmonares. 1º ed. México: Manual Moderno; 2004.
- 19) Goldman L. Ausiello D. Cecil. Tratado de Medicina Interna. Vol 2. 23va ed. Barcelona, España: El Sevier Masson; 2009.
- 20) Donarus A. Farreras P. Rozman C. Cardelach F. Medicina interna. 19va ed. Barcelona, España: El Sevier Masson; 2012.
- 21) Brooks G. Carrol K. Buyel J. Morse S. Migtzner T. Microbiología Médica. 25va ed. Colombia: Mc Graw Hill; 2010.
- 22) Longo D. Kasper D. Jonson J. Fousi A. Houser S. Loscalzo J. Harrison principios de medicina interna. Vol 3. 18va ed. México: Mc Graw Hill; 2008.

- 23) Forbes B. Sanm D. Weissfeld A. Trevio E. Diagnóstico Microbiológico. 11va ed. Uruguay.: Editorial Médica Panamericana; 2004.
- 24) Murray P. Rosenthal K. Pfaller M. Microbiología Médica. 6º ed. Barcelona, España: El Sevier Masson; 2009.
- 25) Ammad N. Plorde J. Lawrence W. Sherris. Microbiología Médica. 5va ed. Colombia: Mc Graw Hill; 2010.
- 26) Moya M. Piñeda P. Marine M. Tratado de medicina de urgencias. 1ra ed. Barcelona, España: Oceano/Ergon; 2012
- 27) Plantas medicinales de Perú. Etnobotánica y viabilidad comercial. 1º ed. Perú; 2010.
- 28) Krapp K. Longe J. Medicina alternativa. 1ra ed. España: Editorial Océano; 2010.
- 29) Idarraga A, Alzate F, Betancur J. Los Secretos de las Plantas. [Libro en línea] 3ra ed. Colombia; 2014; 79 pp. Disponible en:
file:///E:/12vo%20ciclo/TESIS/produccion_final_un_jardin_de_sensaciones.pdf%20cedron.pdf
- 30) Kuklinski C. Farmacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 1va ed. Barcelona: Omega; 2000.
- 31) Alzate E. Plantas Medicinales. 15va ed. Medellín. Ed. Arzobispado de Medellín. 1980.
- 32) Fonegra R, Jiménez S. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. [Libro en línea] 2da ed. Colombia; 2007. Disponible en:
<https://books.google.com.pe/books?id=K8el7ZeFpsC&pg=PA159&lpg=PA159&dq=Gomes%2C+E.+Cymbopogon+citratus.+Aspectos+Botanicos&source=bl&ots=>
- 33) José Luis Berdondes. Gran Enciclopedia de las Plantas Medicinales Océano. Barcelona: España; 2004. 691 p.
- 34) Ministerio de Salud. Gobierno de Chile. MHT. Medicamentos Herbarios Tradicionales. 103 especies vegetales. PROTEGE. Red de Protección Social. [citado 16 sep 2016] Pág. 99-100. Disponible en:
<http://web.minsal.cl/portal/url/item/8da25ec6bc518db0e04001011f016739.pdf>

- 35) Sánchez M. Los aceites esenciales la perfecta medicina de la naturaleza. 1º ed. México: Balboa pres; 2016.
- 36) Flores J. Armijo J. Mediavilla A. Farmacología Humana. 5º ed. Barcelona, España: El Sevier Masson; 2008.
- 37) Katzung B. Masters S. Trevor A. Farmacología Básica y Clínica. 11va ed. Colombia: Mc Graw Hill; 2007.
- 38) Lorenzo P. Moeno A. Leza J. Lizasoain I. Velasquez. Farmacología Básica y Clínica. 17va ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2005.
- 39) Hardman J. Linbird L. Molinoff P. Ruddon R. Gilman A. Las Bases farmacológicas de la terapéutica. 9na ed. México: Mc Graw Hill; 2005.
- 40) Mendoza N. Farmacología Médica. 1ra ed. México: Editorial Médica Panamericana; 2008.
- 41) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI Supplement M100S. 19087 USA, 2016. [citado: 25 de May de 2017]. Disponible en:
<http://ljzx.cqrmhospital.com/upfiles/201601/20160112155335884.pdf>
- 42) Dawson B. Trapp R. Bioestadística Médica, 3ra. ed. México: Manual Moderno; 1999.
- 43) Peredo H. Palou E. López A. Aceites esenciales método de extracción. Temas selectos de ingeniería de alimentos. Journal plant. 2009 3-1. p24-32. [citado: 2017 May 22]. Disponible en:
[http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf)
- 44) Ministerio de Salud del Perú. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2002. [citado: 2017 25 de Mayo del 2017]. Disponible en:
http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/1/manua_l%20sensibilidad.pdf
- 45) CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Twelfth Edition. CLSI document M02-A12. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015. Disponible en:
<http://www.facm.ucl.ac.be/intranet/CLSI/CLSI-2015-M02-A12-original.pdf>

- 46) Sistema de Gestión de la Calidad del Pronahebas, Ministerio de Salud (MINSA). Manual de Bioseguridad: Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre, 2004. norma técnica N° 015 - MINSA / DGSP - V.01. 2004. Perú. [citado: 2017 Jun 2]. Disponible en:
<http://www.minsa.gob.pe/dgsp/observatorio/documentos/infecciones/manual%20de%20bioseguridad.pdf>
- 47) Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. Lima [Perú]: CMP; 2007. [citado: 2017 Jun 2]. Disponible en:
http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/05/ley_creacion_cmp.pdf

VII. ANEXO

ANEXO 01

TAMAÑO DE MUESTRA

Se consideró la siguiente fórmula:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

$$Z_{\frac{\alpha}{2}} = 1.96$$

$$Z_{\beta} = 0.84$$

\bar{x}_1 : = 13mm⁴² Diámetro del halo de inhibición de la Oxacilina

\bar{x}_2 : = 20mm¹³ Diámetro del halo de inhibición del aceite esencial de *A. triphylla*.

σ : 5.95

n = 11 (número de placas mínimas)

Teniendo en cuenta la pérdida de las muestras se usaron 14 placas Petri y se realizaron 84 observaciones.

ANEXO 02

a) Certificación de *Aloysia triphylla* “cedrón” por el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo



ANEXO 03

b) OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Aloysia triphylla* “cedrón” POR EL MÉTODO DE ARRASTRE DE VAPOR DE AGUA⁴³

Tratamiento de la muestra

Las plantas frescas de *Aloysia triphylla* “cedrón”, procedente del distrito de Caraz, Huaraz, en una cantidad de 8 Kg aproximadamente, se llevaron al laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Trujillo, donde se seleccionaron las hojas con buenas condiciones; de este modo, se obtuvo la “muestra fresca” (MF). La MF se lavó con agua destilada clorada y se llevó a un horno a 40-45°C por 3-4 días donde se deshidrató. Después, se estrujaron manualmente las hojas secas hasta que se obtuvo partículas muy pequeñas y se reservó almacenándolas herméticamente en bolsas negras. A esto se le consideró como “muestra seca” (MS).



TRITURADO DE HOJAS SECAS PARA
LLEVARLO A DESTILACION

Obtención del Aceite Esencial

El aceite esencial de *Aloysia triphylla* “cedrón” se obtuvo por el método de arrastre de vapor de agua; para ello, en un balón de 2 L se colocó 1,5 L de agua destilada y en un balón de 4 L se colocó la MS hasta que llenó las 3/4 partes del balón. Ambos balones se taparon herméticamente y estuvieron conectados a través de un ducto. Al mismo tiempo el balón con la muestra estuvo conectado a un condensador recto (refrigerante), el cual desembocó en un embudo decantador tipo pera. De tal modo que, el Balón con agua se calentó con una cocina eléctrica y el vapor de agua pasó a través del ducto hacia el Balón con la MS y arrastró los componentes fitoquímicos (incluido los lípidos). Este vapor se condujo hacia el condensador en donde se convirtió en líquido que fue recepcionado por el decantador tipo pera. Este líquido se disoció en dos fases, quedando el aceite en la superficie por diferencia de densidades. Este proceso se realizó en 2 horas. De este modo, se obtuvo el Aceite Esencial (AE) considerado al 100%; el cual se colocó en un frasco de vidrio ámbar y se reservó a 4°C hasta su utilización (no mayor a 8 días de preferencia).

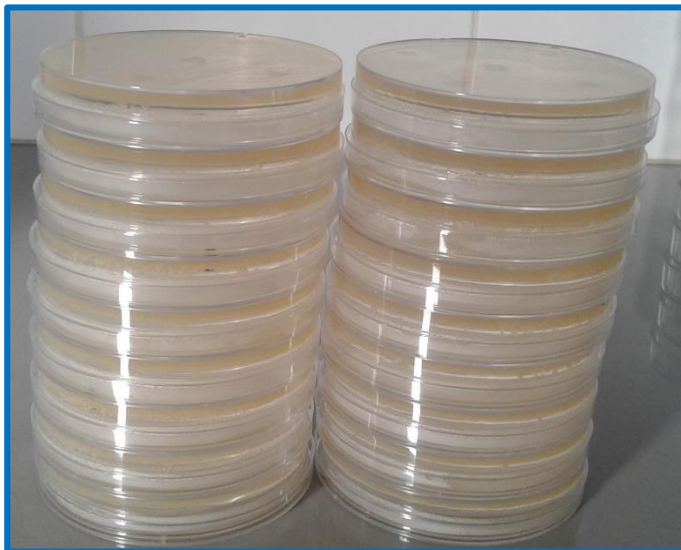
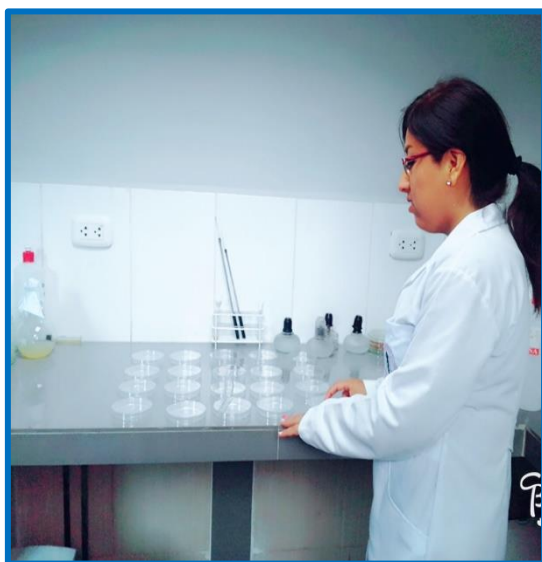


DESTILACION DEL ACEITE POR
ARRASTRE DE VAPOR DE AGUA

ANEXO 04

c) PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO ⁴⁴

El agar Mueller-Hinton es un medio de cultivo que se utiliza para el cultivo de varias bacterias. Se preparó suficiente medio para 10 placas Petri. Para ello, se agregó 200 ml de agua destilada en un matraz y se le adicionó 13 g de agar Mueller-Hinton (deshidratado granulado) marca Merck. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidificó completamente.



PLACAS PETRI CON MEDIO DE CULTIVO

ANEXO 05

d) PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD - DISCO DIFUSIÓN EN AGAR ⁴⁵

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M02-A12 y M100.

1) Preparación del inóculo

El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Staphylococcus aureus*, cultivado hace 18-20 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml).

2) Siembra del microorganismo

Se sembró el microorganismo *Staphylococcus aureus*, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.

3) Preparación de las concentraciones del AE

A partir del AE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfóxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 µL de AE y 250 µL de DMSO al tubo de 75%, 500 µL de AE y 500 µL de DMSO al tubo de 50%, y 250 µL de AE y 750 µL de DMSO al tubo de 25%.

4) Preparación de los discos de sensibilidad con AE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10 µL en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente

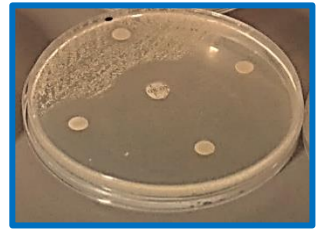
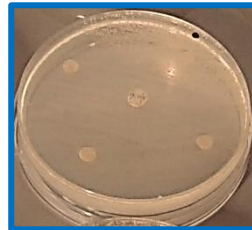
esterilizados. Se tomó 10 µL de AE al 25% y se colocó en un disco, 10 µL de AE al 50% en otro disco, 10 µL de AE al 75% en otro disco y 10 µL de AE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces.

5) Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con AE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Staphylococcus aureus*, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con Oxacilina (control positivo). Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas.

6) Lectura e interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de AE de *Aloysia tryphilla* “cedrón” y para la Oxacilina. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI.



MIDIENDO LOS HALOS DE
INHIBICION



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO


ANEXO 06



FICHA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

FICHA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO POR 3 DOCENTES DE MEDICINA
EXPERTOS EN EL AREA DE MICROBIOLOGIA

PATOGENO Staphylococcus aureus ATC 25923	CONCENTRACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Aloysia triphylla</i> "cedrón"				CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
	DIÁMETROS DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm)					
	100%	75%	50%	25%	Oxacilina	Agua destilada
Muestra 1	32	30	18	9	25	0
Muestra 2	30	29	19	8	28	0
Muestra 3	32	32	23	9	25	0
Muestra 4	35	29	19	10	26	0
Muestra 5	40	36	17	6	29	0
Muestra 6	38	36	16	6	26	0
Muestra 7	39	29	16	9	29	0
Muestra 8	32	28	23	10	28	0
Muestra 9	32	29	17	8	26	0
Muestra 10	36	28	17	12	28	0
Muestra 11	32	26	17	9	30	0
Muestra 12	40	28	15	8	28	0
Muestra 13	36	29	14	6	26	0
Muestra 14	38	32	16	9	24	0


Firma y sello
Dr. Pedro Lezama Asencio
CBP 1239


Firma y sello
Dra. Maria Ayala Ravelo
CBP 1206
Doctora en Salud Pública
Docente Facultad Medicina
U.N.T


Dr. Steve T. Herando Escamilla
MICROBIOLOGO CLINICO
Especialista en Antibióticos Clínicos y Biología
CBP 1239 - CBP 0032
RED ASISTENCIAL LA LIBERTAD
Firma y sello



FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA MEDIR EL TAMAÑO DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN (mm) SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

PATOGENO <i>Staphylococcus aureus</i> ATC 25923	CONCENTRACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Aloysia triphylla</i> "CEDRÓN"				CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
	DIÁMETROS DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm)					
	100%	75%	50%	25%	Oxacilina	Agua destilada
Muestra 1	32	30	18	9	25	0
Muestra 2	30	29	19	8	28	0
Muestra 3	32	32	23	9	25	0
Muestra 4	35	29	19	10	26	0
Muestra 5	40	36	17	6	29	0
Muestra 6	38	36	16	6	26	0
Muestra 7	39	29	16	9	29	0
Muestra 8	32	28	23	10	28	0
Muestra 9	32	29	17	8	26	0
Muestra 10	36	28	17	12	28	0
Muestra 11	32	26	17	9	30	0
Muestra 12	40	28	15	8	28	0
Muestra 13	36	29	14	6	26	0
Muestra 14	38	32	16	9	24	0

ANEXO 08

MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD PARA EL ESTUDIO EXPERIMENTAL ⁴⁶

AMBIENTE SEGURO:

Limpieza: se lavará con agua y detergente, luego sin éste, realizando una acción mecánica o de arrastre sobre las superficies. La limpieza se realizará antes de todos los procedimientos de desinfección y esterilización todas las áreas.

La limpieza se realizará con paños húmedos y el barrido por medio de escoba húmeda, con la intención de prevenir la resuspensión de los microorganismos que se encuentran en el piso. Se iniciará por las partes más altas, siguiendo la línea horizontal, descendiendo por planos.

Desinfección: Se realizará utilizando principalmente agentes químicos en estado líquido, como el alcohol a 70%, la pasteurización a 75°C y la irradiación ultravioleta.

Descontaminación: Se realizará un tratamiento químico aplicado a objetos que tuvieron contacto con sangre o fluido corporales, con el fin de inactivar microorganismos en piel u otros tejidos corporales.

Esterilización: Esterilización por vapor, esterilización por calor seco, esterilización por inmersión en productos químicos.

PROTECCIÓN CORPORAL

Se hará uso de mandiles o batas, siendo esta una prioridad multifactorial para el ingreso al área de trabajo, y en la realización de todos los procedimientos por parte de los integrantes del equipo.

Recomendaciones:

- Se usará bata, chaqueta o uniforme dentro de las instalaciones de trabajo (laboratorio).
- Esta ropa protectora será retirada inmediatamente antes de abandonar el laboratorio.
- Luego será transportada de manera adecuada a un lugar específico para posterior descontaminación y lavado.

PROTECCIÓN OCULAR Y TAPABOCA

- El uso de lentes y de mascarillas tiene como fin proteger las membranas de las mucosas de boca, nariz y ojos durante los procedimientos y actividades que puedan generar aerosoles, y salpicaduras de fluidos.
- Anteojos o lentes de Seguridad:
- Permiten una correcta visión.
- Tienen protección lateral y frontal, ventilación indirecta, visor de policarbonato, sistema antirrayaduras y antiempañantes.
- Permiten el uso simultáneo de lentes correctores.
- Son de uso personal.
- Serán usados en todo momento durante los procesamiento de las muestras y el fraccionamiento de las unidades de fluidos. Cualquier excepción a esta regla, fue descrita en el programa de bioseguridad del servicio.

TAPABOCA:

- Es de material impermeable frente a aerosoles o salpicaduras.
- Es amplio de tal forma que cubre la nariz y toda la boca.
- Será utilizado por el equipo durante todo el tiempo manteniéndolo limpio y sin deformación.

PROTECCIÓN DE LOS PIES:

La protección se realizara para evitar lesiones producidas por sustancias corrosivas, descargas eléctricas, objetos pesados, así como para prevenir deslizamientos en pisos húmedos. Si cayera al suelo una sustancia corrosiva o un objeto pesado.

No se llevara ninguno de los siguientes tipos de calzados para transitar en el laboratorio:

- Zuecos
- Tacones altos
- Zapatos que dejen el pie al descubierto
- Se elegirá un calzado de cuero resistente que cubrió todo el pie. Este tipo de calzado proporcione una mejor protección.

PROTECCIÓN DE LAS MANOS

Se hará uso de guantes para prevenir o disminuir el riesgo de contaminación con los microorganismos de la piel del operador, como de la transmisión de gérmenes manipulados hacia el operador. Se lavarán las manos según técnica clínica con solución a base de clorhexidina y secadas antes del calzado de los guantes los cuales serán estériles.

ANEXO 09

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: ENSAYOS

HSD Tukey

(I) DILUCIONES	(J) DILUCIONES	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
100	75	5.071*	.983	.000	2.31	7.83
	50	17.500*	.983	.000	14.74	20.26
	25	26.643*	.983	.000	23.89	29.40
	OXACILINA	8.143*	.983	.000	5.39	10.90
75	100	-5.071*	.983	.000	-7.83	-2.31
	50	12.429*	.983	.000	9.67	15.19
	25	21.571*	.983	.000	18.81	24.33
	OXACILINA	3.071*	.983	.022	.31	5.83
50	100	-17.500*	.983	.000	-20.26	-14.74
	75	-12.429*	.983	.000	-15.19	-9.67
	25	9.143*	.983	.000	6.39	11.90
	OXACILINA	-9.357*	.983	.000	-12.11	-6.60
25	100	-26.643*	.983	.000	-29.40	-23.89
	75	-21.571*	.983	.000	-24.33	-18.81
	50	-9.143*	.983	.000	-11.90	-6.39
	OXACILINA	-18.500*	.983	.000	-21.26	-15.74
OXACILINA	100	-8.143*	.983	.000	-10.90	-5.39
	75	-3.071*	.983	.022	-5.83	-.31
	50	9.357*	.983	.000	6.60	12.11
	25	18.500*	.983	.000	15.74	21.26

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.